

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Obat Tradisional

Indonesia dikenal sebagai negara dengan sumber daya hayati kedua terbesar yang tersebar di seluruh pulau Indonesia. Di Indonesia terdapat lebih kurang 30.000 jenis tumbuh-tumbuhan, lebih kurang 7.500 jenis diantaranya termasuk tanaman berkhasiat obat (Kotranas, 2006). Lebih dari 1.800 jenis tanaman telah teridentifikasi dari beberapa formasi hutan, namun hingga saat ini pemanfaatannya belum optimal. Tanaman obat yang dimanfaatkan oleh masyarakat baru berjumlah sekitar 1.000 hingga 1.200 jenis, dan yang digunakan dalam industri obat tradisional baru sekitar 300 jenis.

Sumber daya alam bahan obat dan obat tradisional merupakan aset nasional yang perlu terus digali, diteliti, dikembangkan dan dioptimalkan pemanfaatannya. Sebagai suatu negara dengan wilayah yang mempunyai tingkat keanekaragaman hayati yang tinggi, potensi sumber data tumbuhan yang ada merupakan suatu aset dengan nilai keunggulan komparatif dan sebagai suatu modal dasar utama dalam upaya pemanfaatan dan pengembangannya untuk menjadi komoditi yang kompetitif (Depkes, 2007).

Dalam Undang-undang No 23 Tahun 1992 tentang Kesehatan menyebutkan bahwa obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran bahan tersebut yang secara turun-temurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman (Depkes, 2007).

Obat tradisional telah diterima secara luas di negara-negara yang tergolong berpenghasilan rendah sampai sedang. Bahkan di beberapa negara berkembang obat tradisional telah dimanfaatkan dalam pelayanan kesehatan terutama dalam pelayanan kesehatan strata pertama. Sementara itu di banyak negara maju penggunaan obat tradisional makin populer (Depkes, 2007).

Kelebihan dari pengobatan dengan menggunakan ramuan tumbuhan secara tradisional tersebut adalah tidak adanya efek samping yang ditimbulkan seperti yang terjadi pada pengobatan kimiawi. Obat-obatan tradisional selain menggunakan bahan ramuan dari berbagai tumbuh-tumbuhan tertentu yang mudah

didapat di sekitar pekarangan rumah kita sendiri, juga tidak mengandung resiko yang membahayakan bagi pasien dan mudah dikerjakan oleh siapa saja baik dalam keadaan mendesak sekalipun (Thomas, 1992).

Pemanfaatan dan pengembangan obat tradisional di berbagai daerah yang merupakan warisan turun temurun berdasarkan pengalaman/empiris selanjutnya berkembang melalui pembuktian ilmiah melalui uji pra-klinik dan uji klinik. Obat tradisional yang didasarkan pada pendekatan "warisan turun-temurun" dan pendekatan empirik disebut jamu, sedangkan yang berdasarkan pendekatan ilmiah melalui uji pra-klinik disebut obat herbal terstandar dan yang telah melalui uji klinik disebut fitofarmaka (Depkes, 2007).

2.2 Tinjauan Umum Tanaman Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*)

Tanaman jeruk telah ditanam dan dikembangkan sejak lebih dari 4.000 tahun. Tanaman ini tumbuh hampir di setiap negara di dunia pada 40° garis lintang utara-selatan. Jeruk menyebar di dunia melalui berbagai eksplorasi dan peristiwa sejarah diantaranya the conquest dari Alexander Agung, penyebaran ajaran Islam, dan eksplorasi Colombus, yang telah membawa jeruk ke Dunia baru (Septirosya, 2014).

Jeruk berperan sebagai tanaman hortikultura, memiliki nilai ekonominya yang tinggi sehingga banyak petani yang menanamnya. Buah jeruk banyak mengandung vitamin A, vitamin C dan zat-zat mineral lainnya dalam jumlah yang cukup banyak sehingga dapat menunjang gizi keluarga sehari-hari (Wahyuningsih, 2009).

Jeruk (*Citrus sp.*) merupakan tanaman buah tahunan yang berasal dari Asia. Sejak ratusan tahun yang lalu, jeruk sudah tumbuh di Indonesia baik secara alami atau dibudidayakan. Sudah sekitar 70-80% dikembangkan di Indonesia dan setiap tahunnya mengalami perkembangan dalam pembudidayaannya baik mencakup luasan lahan, jumlah produksi bahkan permintaan pasar (Sekretariat Jenderal - Kementerian Pertanian, 2015).

2.2.1 Klasifikasi Tanaman

Klasifikasi *Citrus reticulata* dalam sistematika tumbuhan (Van Steenis, 1975) sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Divisio : Spermatophyta
 Subdivisio : Angiospermae
 Class : Dicotyledonae
 Ordo : Rutales
 Familia : Rutaceae
 Genus : Citrus
 Spesies : *Citrus reticulata*

2.2.2 Sinonim Botani Citrus reticulata

Citrus nobilis, *Citrus deliciosa*, *Citrus chrysocarpa* (CCRC, 2014)

2.2.3 Nama Daerah Citrus reticulata

Jeruk keprok (Melayu dan Jawa), jeruk Jepun (Sunda dan Sumatra), dan jeruk Maseh (Verheij dan Coronel, 1992).

2.2.4 Morfologi Tanaman

Tumbuhan ini merupakan jenis pohon dengan tinggi 2-8 meter. Tangkai daun bersayap sangat sempit sampai boleh dikatakan tidak bersayap, panjang 0,5-1,5 cm. Helaian daun berbentuk bulat telur memanjang, elliptis atau berbentuk lanset dengan ujung tumpul, melekok ke dalam sedikit, tepinya bergerigi beringgit sangat lemah dengan panjang 3,5-8 cm. Bunganya mempunyai diameter 1,5-2,5 cm, berkelamin dua daun mahkotanya putih. Buahnya berbentuk bola tertekan dengan panjang 5-8 cm, tebal kulitnya 0,2-0,3 cm dan daging buahnya berwarna oranye. Rantingnya tidak berduri dan tangkai daunnya selebar 1-1,5 mm (CCRC, 2014).



Gambar 2.1 Pohon dan Buah Jeruk Keprok (CCRC, 2014)

2.2.5 Penyebaran Tanaman

Jeruk merupakan komoditi buah yang paling populer di dunia setelah anggur. Daerah tumbuhnya membentang dari 40 LU-40 LS. Total luas areal tanaman jeruk di seluruh dunia tidak kurang dari 1,5 juta hektar. Buah jeruk bukan tanaman asli Indonesia. Negeri asal jeruk adalah Asia Tenggara, India, Cina, Australia dan Kaledonia Baru. Tanaman jeruk yang sekarang dibudidayakan di Indonesia dahulunya berasal dari daerah tropis yang memiliki curah hujannya cukup tinggi yaitu daerah Cina Selatan dan Vietnam. Daerah penyebaran tanaman jeruk sangat luas, karena tanaman ini bisa tumbuh bagus di daerah tropis maupun subtropis. Suhu terendah yang dapat diterima pohon jeruk adalah 15° C sedang di daerah subtropis suhu terendah adalah 6° C. Suhu tinggi yang dapat ditolerir jeruk adalah 25° – 30° C Di Indonesia tanaman jeruk sudah terdapat sejak ribuan tahun yang lalu. Daerah penyebaran jeruk di Indonesia yaitu Garut, Sukabumi, Purworejo, Karang Anyar, Sragen, Banyuwangi, Tulungagung, Jenepono, Pangkep, Bangli, Sambas, Pontianak, Sumedang, Bogor, Tasikmalaya, Cilacap, Banyumas, Solo, Madura, Malang, Palembang, Medan, Brastagi, Bali, Kalimantan Barat, Kalimantan Timur dan Sulawesi Selatan (Wahyuningsih, 2009).

2.2.6 Manfaat

Citrus reticulata merupakan salah satu tanaman yang mempunyai banyak manfaat untuk kesehatan tubuh. Hal itu diketahui dari banyaknya efek farmakologi yang telah ditemukan pada *Citrus reticulata* antara lain, efek yang signifikan sebagai antimutagenik, antiinflamasi, antioksidan, antitumor, anti arteriosklerosis, dan antibakteri (Jasim A. R., 2012). Pada penelitian disebutkan bahwa dengan rutin mengkonsumsi buah jeruk manis setiap hari dapat menekan risiko stroke sekitar 19 persen (Suwanto, 2010). Kulit buah jeruk juga memiliki kandungan yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh. Mengkonsumsi kulit jeruk keprok dapat membantu memerangi kolesterol jahat dalam tubuh yang beresiko pada penyakit jantung. Kulit jeruk keprok juga dapat meningkatkan kerja sistem pencernaan. (Indira *et al.*, 2015).

Kulit jeruk *Citrus reticulata* juga mengandung senyawa flavonoid yang cukup tinggi sehingga dapat digunakan untuk mencegah terjadinya obesitas dengan

menurunkan berat badan dan mencegah tingginya kadar kolesterol didalam tubuh (Jasim, 2012).

2.2.7 Kandungan

Kulit jeruk *Citrus reticulata* mempunyai berbagai macam senyawa diantaranya adalah *Tangeraxanthin*, *Tangeritin*, *Terpinen-4-ol*, *Terpineolene*, *Tetradecanal*, *Threonine*, *Thymol*, *Thymyl- methyl-ether*, *Tryptophan*, *Tyrosine*, *Nobiletin*, *Cis-3-hexenol*, *Cis-carveol*, *Citric-acid*, *Citronellal*, *Citronellic-acid*, *Citronellyl-acetate*, *Cystine*, *Decanal*, *Decanoic- acid*, *Decanol* (CCRC, 2014).

2.2.8 Aktivitas Antibakteri Kulit Buah *Citrus reticulata*

Pada penelitian sebelumnya kulit *Citrus reticulata* telah dilakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram yang menyebutkan bahwa KHM dari ekstrak etanol *Citrus reticulata* adalah 320,32 µg/mL dan memiliki zona hambat $6,91 \pm 0,087$ mm terhadap *Staphylococcus aureus* (Yashaswini, 2018).

Tanaman jeruk mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan fenol (Okwu dan Imenike, 2006). Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri (Kurniawan dan Aryana, 2015). Flavonoid digunakan sebagai antimikroba, antijamur, antivirus, antikanker, dan antitumor. Selain itu flavonoid juga dapat digunakan sebagai antibakteri, anti alergi, sitotoksik, dan anti hipertensi (Hapsoro, 2008). Tannin dapat berfungsi sebagai agen antimikroba alami, tetapi tidak aktif terhadap spektrum yang luas dari jamur dan bakteri (Ismarani, 2012). Saponin juga memiliki efek antibakteri, cara kerjanya yakni dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteriolisis (Kurniawan dan Aryana, 2015).

Sedangkan menurut penelitian sebelumnya dari Syultonil (2017) mendapatkan hasil bahwa ekstrak *Citrus reticulata* menggunakan fraksi etanol sebagai pelarut polar dapat menarik senyawa flavonoid, terpenoid, dan polifenol.

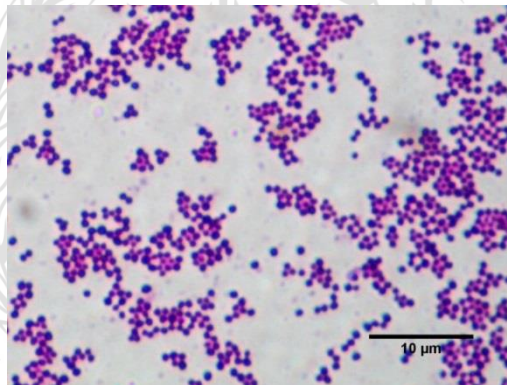
2.3 Tinjauan Umum *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif yang berbentuk bulat, biasanya tersusun dalam bentuk yang tidak teratur seperti buah anggur. *Staphylococcus aureus* tumbuh dengan mudah pada banyak jenis media dan aktif secara metabolik, melakukan fermentasi karbohidrat dan menghasilkan pigmen yang bervariasi dari putih hingga kuning tua (Jawetz, *et al.*, 2013).

Staphylococcus adalah penyebab utama infeksi bernanah pada manusia yang terdapat di rongga hidung dan kulit sebagian besar populasi manusia. Jalur masuknya *Staphylococcus* ke tubuh melalui folikel rambut, tusukan jarum, dan juga dapat melalui saluran pernafasan (Triana, 2014).

2.3.1 Taksonomi

Kingdom : Bacteria
 Filum : Firmicutes
 Kelas : Bacilli
 Ordo : Bacillales
 Famili : Staphylococcaceae
 Genus : *Staphylococcus*
 Spesies : *Staphylococcus aureus*
 (Brooks *et al.*, 2012).



Gambar 2.2 Pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus* menunjukkan Gram positif

2.3.2 Morfologi

Staphylococcus aureus merupakan bakteri non motil, tidak berspora, bersifat gram positif, berbentuk bulat dengan diameter 1μm dan tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak beraturan seperti buah anggur. Namun terkadang ada yang bersifat gram negatif yaitu pada bakteri yang telah difagositosis atau pada biakan tua yang hampir mati (Amanati, 2014).

Staphylococcus aureus tumbuh dengan mudah pada media bakteriologis di bawah kondisi aerobik atau mikroaerofilik. Bakteri ini tumbuh paling banyak pada suhu 37°C tapi membentuk pigmen yang paling baik pada suhu kamar yaitu 20-25°C (Jawetz, *et al.*, 2013).

2.3.3 Pewarnaan Gram

Prinsip pewarnaan Gram menurut Biomed dan Lestari (2011) :

- Kristal violet mewarnai semua bakteri menjadi ungu tua.
- Larutan Iodin menahan zat warna violet secara lebih kuat atau lemah, tergantung jenis bakterinya.
- Etanol 95% :
 - ✓ Memudarkan warna bakteri ketika ungu kristal tidak terikat kuat oleh larutan iodin.
 - ✓ Tidak memudarkan warna bakteri ketika ungu kristal terikat kuat oleh larutan iodin.
- Larutan Fuksin karbol, merah netral, atau safranin (berwarna pink):
 - ✓ Mewarnai ulang (pink) bakteri yang warnanya dipudarkan oleh etanol
 - ✓ Tidak berpengaruh terhadap bakteri yang tetap berwarna ungu tua (tidak dipudarkan oleh etanol).

Perwarnaan bakteri uji yang dilakukan adalah pewarnaan Gram yang bertujuan mengidentifikasi bakteri berupa Gram positif atau Gram negatif. Diambil aquades ditetaskan pada objek glass ditambahkan 1 ose biakan sampel, lalu lakukan fiksasi di atas api. Tetesi pewarnaan dengan kristal violet dan biarkan selama 1 menit, cuci dengan air mengalir, kemudian tetesi Lugol biarkan selama satu menit dan kembali dicuci dengan air mengalir. selanjutnya tetesi alkohol 96% biarkan selama 10-20 detik, cuci dengan air mengalir dan tambahkan safranin biarkan selama 20-30 detik kemudian cuci lagi dengan air mengalir. Tahap selanjutnya keringkan dengan menggunakan kertas serap dan tambahkan minyak emersi dan amati di bawah mikroskop. Bila hasil pewarnaan diperoleh bakteri berwarna merah maka bakteri tersebut adalah bakteri gram negatif, sedangkan bila diperoleh bakteri berwarna ungu maka bakteri tersebut adalah gram positif (Lenni., 2011).

Sehingga untuk memastikan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* akan tetap menjadi warna ungu karena bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif.

2.3.4 Patogenesis dan Patologi

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri penyebab Infeksi tersering di dunia. Tingkat keparahan infeksi pun bervariasi, mulai dari infeksi

minor di kulit (furunkulosis dan impetigo), infeksi traktus urinarius, infeksi traktus respiratorius, sampai infeksi pada mata dan Central Nervous system (CNS).

Staphylococcus berasal dari kata *staphyle* berarti kelompok buah anggur, *coccus* berarti bulat dan *aureus* berarti keemasan. Kuman ini sering ditemukan berkolonisasi sebagai flora normal pada kulit rongga hidung manusia. Diperkirakan 50% individu dewasa merupakan *carrier Staphylococcus aureus*, akan tetapi keberadaan *Staphylococcus aureus* pada saluran pernapasan atas dan kulit pada individu sehat jarang menyebabkan penyakit. Infeksi serius dari *Staphylococcus aureus* dapat terjadi ketika sistem imun melemah yang disebabkan oleh perubahan hormon, penyakit, luka, penggunaan steroid atau obat lain yang mempengaruhi imunitas (Chatim et al., 1993).

Ciri khas infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* adalah radang supuratif (bernanah) pada jaringan lokal dan cenderung menjadi abses. Manifestasi klinis yang paling sering ditemukan adalah furunkel pada kulit dan impetigo pada anak-anak. Infeksi superfisial ini dapat menyebar (metastatik) ke jaringan yang lebih dalam menimbulkan osteomielitis, artritis, endokarditis dan abses pada otak, paru-paru, ginjal serta kelenjar mammae (DeLeo, 2009).

Patogenesis infeksi *Staphylococcus aureus* merupakan hasil interaksi berbagai protein permukaan bakteri dengan berbagai reseptor pada permukaan sel inang. Penentuan faktor virulen mana yang paling berperan sulit dilakukan karena demikian banyak dan beragam faktor virulen yang dimiliki *Staphylococcus aureus* (DeLeo, 2009).

2.3.5 Tinjauan Umum Infeksi

Neutrofil adalah fagosit, yang berarti mereka menelan mikroorganisme berbahaya yang masuk ke dalam tubuh. Ketika mikroorganisme yang tertelan, butiran yang mengandung enzim pencernaan dan protein sitotoksik yang dilepaskan ke dalam vesikel fagositosis, dan mikroorganisme ini hancur dan mencegahnya menyebar ke seluruh tubuh.

Pertahanan utama terhadap infeksi *Staphylococcus aureus* adalah respon neutrofil. Namun ketika *Staphylococcus aureus* memasuki kulit, neutrofil dan makrofag bermigrasi ke tempat infeksi, *Staphylococcus aureus* menghindarkan respon ini dalam banyak cara termasuk memblokir chemotaxis dari leukosit,

mengasingkan antibodi inang, bersembunyi dari deteksi melalui kapsul polisakarida atau pembentukan biofilm, dan melawan kerusakan setelah dicerna oleh fagosit (Steven *et al.*, 2015).

2.3.6 Terapi

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri penyebab Infeksi tersering di dunia. *Staphylococcus aureus* mempunyai masalah yang sangat serius karena peningkatan resistensi bakteri ini terhadap berbagai jenis antibiotik (*Multi Drug Resistance*) (Afifurrahman *et al.*, 2014).

Antibiotik yang menjadi korban dari *Staphylococcus aureus* saat itu adalah Penicillin. Penicillin pertama muncul pada tahun 1940 dan dalam waktu 10 tahun, Penicillin sudah tidak efektif untuk tatalaksana *Staphylococcus aureus*. Hingga akhirnya *Penicillin resistant Staphylococcus aureus* menjadi pandemik sepanjang akhir tahun 1950an hingga awal tahun 1960-an (Afifurrahman *et al.*, 2014).

Untuk menangani *Penicillin resistant Staphylococcus aureus*, munculah Methicillin pada tahun 1959. Akan tetapi, 2 tahun setelah antibiotik di perkenalkan untuk penanganan *Penicillin-resistant Staphylococcus aureus*, kasus *Meticillin resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) telah dilaporkan. *Methicillin resistant Staphylococcus aureus* merupakan strain *Staphylococcus aureus* yang telah resisten terhadap aktivitas antibiotik golongan β -laktam, termasuk golongan penicillinase-resistant penicillins (oxacillin, methicillin, nafcillin, cloxacillin, dicloxacillin), cephalosporin dan carbapenem. Selain itu, resistensi silang juga terjadi pada antibiotik non- β -laktam seperti eritromisin, klindamisin, gentamisin, kotrimoksazol, dan siprofloksasin. Saat ini glikopeptida vancomycin adalah obat pilihan (drug of choice) untuk terapi infeksi MRSA. Peningkatan penggunaan vancomycin dan pemberiannya yang tidak tepat untuk terapi MRSA memungkinkan terjadinya peningkatan resistensi *Staphylococcus aureus* terhadap vancomycin (Afifurrahman *et al.*, 2014).

2.4 Tinjauan Umum Antibiotik

Antibakteri merupakan suatu agen yang digunakan untuk membunuh atau menekan pertumbuhan atau reproduksi bakteri (Mirzoeva *et al.*, 1997). Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antimikroba yang bersifat menghambat pertumbuhan

mikroba, dikenal sebagai aktivitas bakteriostatik; dan ada yang bersifat membunuh mikroba, dikenal sebagai aktivitas bakterisid (Smith-Keary, 1988)

Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM). Antimikroba tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisid bila kadar antimikrobanya ditingkatkan melebihi KHM. Sifat antimikroba berbedada satu dengan yang lainnya. Berdasarkan perbedaan sifat ini antimikro dibagi menjadi dua kelompok, yaitu berspektrum sempit dan luas. (Farmakologi dan Terapi edisi 5, 2007)

Anti bakteri bekerja melalui 5 mekanisme yaitu :

a. Menghambat metabolisme sel bakteri

Agen anti bakteri yang menghambat metabolisme sel disebut sebagai antimetabolit. Senyawa ini menghambat metabolisme mikroorganisme dan bukan metabolisme dari *host*. Proses ini dilakukan dengan menghambat reaksi enzim katalis yang hadir dalam sel bakteri.

b. Menghambat sintesis dinding sel

Penghambatan sintesis dinding sel bakteri menyebabkan lisis bakteri. Agen ini bekerja dengan cara menghambat dan mengaktivasi enzim yang dapat merusak dinding sel bakteri. (Smith-Keary, 1988). Agen yang beroperasi adalah penisilin dan sefalosporin. (Farmakologi dan Terapi edisi 5, 2007)

c. Berinteraksi dengan membran plasma

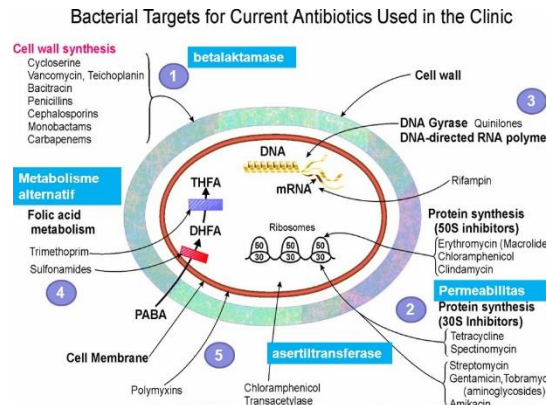
Bekerja dengan cara berinteraksi dengan membran sel bakteri dan mempengaruhi permeabilitas membran plasme. Agen yang beroperasi dengan cara ini ialah polimiksin.

d. Menghambat sintesis protein

Agen yang mengganggu sintesis protein diantaranya rifampisin, aminoglikosida, tetrasiklin dan kloramfenikol. Bekerja mempengaruhi ribosom bakteri dan enzim yang esensial untuk sintesis protein terhambat.

e. Menghambat sintesis asam nukleat

Mengganggu fungsi dari asam nukleat, menghambat enzim yang berperan dalam sintesis asam nukleat. 4 agen yang bekerja dengan mekanisme ini adalah kuinolon (Farmakologi dan Terapi edisi 5, 2007).



Gambar 2.3 Mekanisme antibiotik

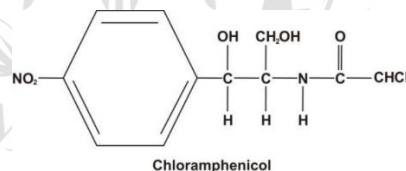
2.4.1 Mekanisme Kloramfenikol

Kloramfenikol adalah antibakteri yang pertama kali diisolasi dari kultur *Streptomyces venezuela* pada tahun 1947 namun sekarang diproduksi secara sintesis. Ini memiliki struktur yang relatif sederhana dan merupakan turunan dari asam dichloroacetic dengan bagian nitrobenzene. Kloramfenikol merupakan antibiotik berspektrum luas yang bekerja dengan cara menghambat sintesis protein bakteri (Sweetman, 2009).

Rumus Molekul : $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$

Berat Molekul : 323,13

Rumus Bangun :



Gambar 2.4 Struktur Kloramfenokol

Pemerian : Hablur halus berbentuk jarum atau lempeng memanjang; putih hingga putih kelabu atau putih kekuningan; Larutan praktis netral terhadap *lakmus P*; stabil dalam larutan netral atau larutan agak asam.

Kelarutan : Sukar larut dalam air; mudah larut dalam etanol, dalam propilen glikol, dalam aseton dan dalam etil asetat.

Penyimpanan : dalam wadah tertutup baik, terlindung dari cahaya.

Penggunaan : Antibiotik (Farmakope V, 2014)

Mekanisme kerja dari kloramfenikol yaitu berikatan dengan subunit 50S ribosom bakteri dan menghambat sintesis protein pada reaksi peptidil transferase. Karena kemiripan ribosom mitokondria mamalia dengan bakteri, sintesis protein dalam organel ini dapat dihambat pada kadar kloramfenikol yang tinggi dalam sirkulasi. Akan tetapi penggunaan klinis kloramfenikol terhadap pada infeksi terbatas dikarenakan memiliki efek samping yang serius terkait pemberiannya (Harvey & Pamela, 2013). Pada penelitian yang dilakukan (Yanti, 2015) uji aktivitas antibakteri menggunakan kloramfenikol dengan konsentrasi 30 µg/ml menghasilkan zona hambat rata-rata sebesar 19,27 mm terhadap *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2017), diameter zona hambat dari antibiotik kloramfenikol terhadap *Staphylococcus aureus* masih tergolong sensitif.

Tabel II.1 **Standart interpretasi diameter zona hambat *Staphylococcus aureus***

Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Interpretive (mm)			Diameter Criteria	Comment
		S	I	R		
		≥18	13-17	≤12		
Chloramphenicol	30 µg/mL	≥18	13-17	≤12	-	-

Ket : S = Sensitive, I = Intermediate, R = Resistent

2.5 Metode Ekstraksi

2.5.1 Pengertian Ekstrak dan Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Farmakope V, 2014).

Ekstraksi adalah pemisahan senyawa aktif tanaman (dan hewan) dari jaringan tumbuhan menggunakan pelarut yang sesuai melalui prosedur yang telah ditetapkan. Produk yang diperoleh dari tanaman adalah campuran metabolit yang

relatif kompleks, dalam keadaan cair atau semipadat atau (setelah mengeluarkan pelarut) dalam bentuk bubuk kering, dan dimaksudkan untuk penggunaan oral atau eksternal (Tiwari, *et al.*, 2011).

Prinsip dasar ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non-polar dalam pelarut non-polar. Serbuk simplisia diekstraksi berturut-turut dengan pelarut yang berbeda polaritasnya (Harbone, 1996).

Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan adalah sebagai berikut :

1. Pengelompokan bagian tumbuhan (daun, bunga, dll), pengeringan dan penggilingan bagian tumbuhan.
2. Pemilihan pelarut
3. Pelarut polar: air, etanol, metanol, dan sebagainya.
4. Pelarut semipolar: etil asetat, diklorometan, dan sebagainya.
5. Pelarut nonpolar: n-heksan, petroleum eter, kloroform, dan sebagainya

2.5.2 Tujuan Ekstraksi

Ekstraksi bahan alam bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam. Ekstraksi didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat kedalam cairan penyari. Perpindahan tersebut mulai terjadi pada lapisan antar muka, kemudian berdifusi masuk kedalam pelarut (Ditjen POM., 1986).

2.5.3. Jenis Ekstraksi

Mukhriani (2014) menerangkan tentang macam-macam metode ekstraksi yang dapat digunakan adalah sebagai berikut:

1) Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan, baik untuk skala kecil maupun skala industri (Agoes, 2007). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan saat tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah

proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang cukup banyak, dan kemungkinan besar beberapa senyawa ada yang hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun pada sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat tidak stabil dengan pemanasan.

2) Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu.

3) Soxhlet

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux. Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang diperoleh terus-menerus berada pada titik didih.

4) Reflux dan Destilasi Uap

Pada metode reflux, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Uap terkondensasi dan kembali ke dalam labu. Destilasi uap memiliki proses yang sama dan biasanya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial (campuran berbagai senyawa menguap). Selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat (terpisah sebagai 2

bagian yang tidak saling bercampur) ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari kedua metode ini adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi (Seidel, 2006).

2.6 Fraksinasi

Fraksinasi adalah suatu metode pemisahan senyawa organik berdasarkan kelarutan senyawa-senyawa tersebut dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur, biasanya antara pelarut air dan pelarut organik seperti metanol, etanol, etilasetat, *n*-heksana dan petroleum eter (Dey, 2012). Fraksinasi yang bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya. Pada prinsipnya senyawa polar diekstraksi dengan pelarut polar sedangkan senyawa non polar diekstraksi dengan pelarut non polar (Harbone, 1987).

Ekstrak dipartisi dengan menggunakan peningkatan polaritas pelarut seperti petroleum eter, *n*-heksana, kloroform, dietil eter, etilasetat dan etanol. Pemilihan pelarut pada ekstraksi umumnya bergantung pada sifat analitnya dimana pelarut dan analit harus memiliki sifat yang sama, contohnya analit yang sifat lipofilitasnya tinggi akan terekstraksi pada pelarut yang relatif nonpolar seperti *n*-heksana sedangkan analit yang semipolar terlarut pada pelarut yang semipolar seperti etilasetat atau diklorometana (Venn, 2008).

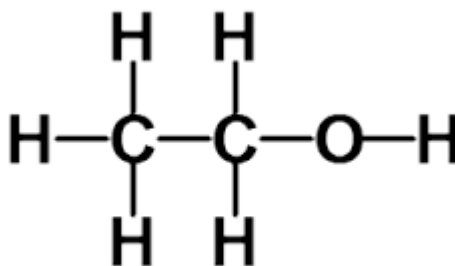
Fraksinasi bertingkat umumnya diawali dengan pelarut yang kurang polar dan dilanjutkan dengan pelarut yang lebih polar. Tingkat polaritas pelarut dapat ditentukan dari nilai konstanta dielektrik pelarut itu sendiri.

2.7 Tinjauan Pelarut

Pelarut adalah zat yang digunakan sebagai media untuk melarutkan zat lain. Kesuksesan untuk mendapatkan senyawa biologis aktif dari bahan tumbuhan sangat tergantung pada jenis pelarut yang digunakan dalam prosedur ekstraksi. Sifat pelarut yang baik yaitu toksisitas dari pelarut yang rendah, mudah menguap pada suhu yang rendah, dapat mengekstraksi komponen senyawa dengan cepat, dapat mengawetkan dan tidak menyebabkan ekstrak terdisosiasi (Tiwari. *et al.*, 2011).

Secara umum, ekstraksi dengan pelarut dapat dilakukan dengan metode ekstraksi tunggal dan bertingkat. Ekstraksi bertingkat dilakukan dengan cara melakukan perendaman dengan pelarut dengan polaritas yang berbeda secara berurutan.

2.7.1 Etanol (EtOH)



Gambar 2.5 Struktur Etanol

Berikut monografi dari etanol menurut (Farmakope V, 2014):

Nama	: Etanol
Sinonim	: Alkohol, Etil alkohol
Rumus molekul	: C_2H_6O
Bobot molekul	: 46,07
Pemerian	: Cairan mudah menguap, jernih, tidak berwarna; bau khas dan menyebabkan rasa terbakar pada lidah. Mudah menguap walaupun pada suhu rendah dan mendidih pada suhu 78°, mudah terbakar.
Kelarutan	: Bercampur dengan air dan praktis bercampur dengan semua pelarut organik.
Penyimpanan	: Dalam wadah tertutup rapat, jauh dari api.

2.8 Uji Kepekaan Antimikroba Secara In-Vitro

Metode skrining yang digunakan untuk mendeteksi aktifitas antimikroba pada bahan alami dibagi menjadi 3 kelompok yaitu metode difusi, dilusi dan bioautografi. Metode difusi dan bioautografi merupakan teknik secara kualitatif karena metode ini hanya akan menunjukkan ada atau tidaknya senyawa dengan aktivitas antimikroba. Sedangkan metode dilusi digunakan untuk kuantitatif yang akan menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (Choma, 2010).

2.8.1 Metode Dilusi

Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu dilusi cair dan dilusi padat.

- 1) Metode dilusi cair (*broth dilution test*)

Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji (Pratiwi, 2008). Jumlah koloni bakteri yang ditambahkan adalah sebanyak $1 - 5 \times 10^5$ CFU (colony forming unit)/mL. Setelah dilakukan pencampuran, tabung disimpan dalam suhu 35°C selama satu malam. Tahap selanjutnya adalah melihat apakah ada pertumbuhan bakteri di tabung tersebut. Jika tidak ditemukan pertumbuhan bakteri dengan konsentrasi antibiotik terendah yang diberikan, maka disebut dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) atau minimum inhibitory concentration (MIC) (James dan Marry, 2009).

2) Metode dilusi padat

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

2.8.2 Metode Difusi Cakram

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Cakram kertas saring berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada permukaan medium yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah inkubasi, diameter zona hambatan sekitar cakram dipergunakan mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode ini dipengaruhi oleh beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat). Meskipun demikian, standarisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji kepekaan dengan baik (Jawetz et al., 2001).

Metode difusi dibagi lagi menjadi tiga, yaitu difusi cakram, difusi silinder dan hole plate. Dalam prosedur cakram, kertas cakram (berdiameter $\pm 6 \text{ mm}$) yang mengandung senyawa uji ditempatkan pada permukaan agar yang sebelumnya diinokulasi dengan mikroorganisme uji. Senyawa uji berdifusi ke medium agar menyebabkan perhambatan pertumbuhan mikroorganisme. Cawan petri diletakan pada suhu kamar sebelum diinkubasi, kemudian zona hambat diukur. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan secara visual, karena uji senyawa konsentrasi terendah, yang dapat menyebabkan zona hambat pertumbuhan dapat dikenali. Namun, metode difusi kurang cocok untuk menentukan nilai KHM dari pada dilusi,

karena tidak mungkin mengukur jumlah senyawa uji yang berdifusi kedalam medium agar (Choma et al., 2010).

2.8.3 Metode Bioautografi

Bioautografi merupakan metode skrining mikrobiologi yang biasa digunakan untuk mendeteksi aktivitas antimikroba yang belum teridentifikasi dengan cara melokalisir aktivitas antimikroba tersebut pada suatu kromatogram (Choma, 2010). Bioautografi dilakukan dengan meletakkan plat KLT sampel yang telah dikeringkan di atas media yang telah diberi suspensi bakteri selama 20 menit. Media pertumbuhan bakteri tersebut diinkubasi pada suhu 37° C selama 18-24 jam. Lalu diamati zona hambatan yang terbentuk (Aristiani dan Astuti., 2005).

Prosedur dalam metode bioautografi mirip dengan yang digunakan dalam metode difusi agar. Yang membedakannya adalah bahwa senyawa uji berdifusi dari kertas kromatografi ke media agar yang diinokulasi. Metode bioautografi dibagi lagi menjadi bioautografi kontak, imersi (agar over-play) dan langsung (Choma et al., 2010).

2.9 Tinjauan DMSO

Metode pengenceran kaldu konvensional diterapkan untuk mengukur MIC. Hal ini membutuhkan pembuatan berbagai pengenceran senyawa yang diuji dalam pelarut yang sesuai. Alternatifnya untuk melarutkan ekstrak adalah dengan menggunakan pelarut seperti metanol, etanol, atau DMSO. Pemilihan pelarut yang tepat merupakan salah satu faktor paling signifikan yang dapat mempengaruhi pengukuran MIC (Junior et al., 2015).

DMSO lebih sering digunakan dibandingkan etanol. DMSO adalah pelarut aprotik polar yang dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar ataupun non polar. Penelitian yang dilakukan oleh (Wadhwani et al., 2008) yang membahas tentang pengaruh berbagai pelarut pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan metode dilusi dengan pelarut DMSO, metanol dan etanol menggunakan konsentrasi 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, dan 6%. Didalam penelitian tersebut disimpulkan bahwa pada pemberian DMSO dengan konsentrasi >4% menunjukkan penurunan yang signifikan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan tidak toksik dibandingkan dengan pelarut metanol dan

etanol. Sehingga disini saya menggunakan konsentrasi 2 % karena relatif tidak mempengaruhi pertumbuhan bakteri.

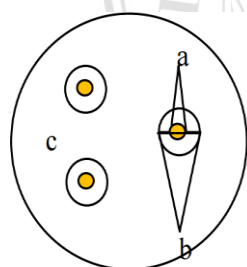
Tabel II.2 Potensi hambat dengan berbagai pelarut (Wadhwani *et al.*, 2008)

Pelarut	Rata-rata % pertumbuhan semua organisme yang di uji					
	1 %	2 %	3 %	4%	5 %	6 %
DMSO	97,6	97	93,2	52,2	41,6	33,2
Methanol	95,6	93,8	89	57,8	51,4	37,2
Etanol	81	74,2	68,2	54,8	41,2	30,6

2.10 Pengukuran Zona Hambat

Aktivitas antibakteri dinyatakan positif apabila zona hambat berupa zona bening disekeliling kertas cakram. Bagian yang dihitung dengan jangka sorong adalah diameter dari zona hambat yang terbentuk (Pratiwi, 2008).

Diameter zona hambat dideskripsikan dengan gambar di bawah ini:



Keterangan:

- a = Diameter kertas cakram (6 mm)
- b = Diameter zona hambat yang terbentuk (mm)
- c = Daerah yang ditumbuhi bakteri

Gambar 2.6 Perhitungan diameter zona hambat antibakteri (Sinaga et al., 2016)

Menurut Greenwood (1995) disitasi oleh Pratama (2005), respon hambatan pertumbuhan bakteri disajikan dalam tabel dibawah ini:

Tabel II.3 Klasifikasi Respon Hambat Pertumbuhan Bakteri

Diamter zona hambat	Respon hambat pertumbuhan
≥ 20 mm	Kuat
16 - 20 mm	Sedang
1 - 15 mm	Lemah
0	Tidak ada

2.11 Standar Mc Farland

Standar McFarland digunakan untuk membakukan perkiraan jumlah bakteri dalam suspensi cair dengan membandingkan kekeruhan uji suspensi dengan Standar McFarland (Dalynn Biological, 2014).

Standar McFarland adalah larutan kimia dari barium klorida dan asam sulfat; reaksi antara dua bahan kimia ini menghasilkan endapan halus, barium sulfat. Ketika dikocok dengan baik, kekeruhan Standar McFarland secara visual sebanding dengan suspensi bakteri konsentrasi diketahui seperti yang ditunjukkan tabel di bawah ini :

Tabel II.4 Tabel Standar kekeruhan Mc Farland (Dalynn Biological, 2014).

Cat No.	McFarland Standard	1% BaCl ₂ (mL)	1% HSO ₄ (mL)	Approximate Bacterial Suspension/mL
TM50	0.5	0.05	9.95	1.5×10^8
TM51	1.0	0.10	9.90	3.0×10^8
TM52	2.0	0.20	9.80	6.0×10^8
TM53	3.0	0.3	9.7	9.0×10^8
TM54	4.0	0.4	9.6	1.2×10^8

TM55	5.0	0.5	9.5	1.5×10^9
TM56	6.0	0.6	9.4	1.8×10^9
TM57	7.0	0.7	9.3	2.1×10^9
TM58	8.0	0.8	9.2	2.4×10^9
TM59	9.0	0.9	9.1	2.7×10^9
TM60	10.0	1.0	9.0	3.0×10^9

(Sumber : Dalynn Biologicals, 2014)

